

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ РОСТА КАЛЛУСА ЛИСТОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СИРЕНИ (SYRINGA VULGARIS (L.), КУЛЬТИВИРУЕМОГО НА МОРФОГЕННЫХ СРЕДАХ

Любаковская Л. А., Коробов Г. Д.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. В развитом индустриальном обществе одной из актуальных проблем является - рациональное использование растительных ресурсов и сохранения их биоразнообразия. В настоящее время все большее значение приобретают биотехнологические подходы по использованию клеточных культур растений - альтернативных источников растительного сырья [1]. Культура клеток высших растений представляет собой экспериментально созданную популяцию соматических клеток, являющуюся универсальным инструментом как для решения многих прикладных, так и фундаментальных задач. Особенностью растительных клеток является синтез веществ вторичного метаболизма, определяющих фармакологические свойства растений и выполняющих самые разнообразные функции. Важное место среди вторичных метаболитов занимают фенольные

соединения – низкомолекулярные соединения с высокой биологической активностью, образование которых свойственно практически каждой растительной клетке [2]. Важное значение для биотехнологического получения культуры клеток является получение линий характеризующихся высоким ростовым, биосинтетическим и морфологическим потенциалом, позволяющим получать клеточные линии, решающие вопросы как сохранения биоразнообразия растений, повышающие индекс размножения, так и являющихся альтернативным источником лекарственного сырья. Поскольку процессы морфогенеза тесно связаны с процессами пролиферации, роста и дифференциации в очагах органогенеза [3,4,5] следовательно, на молекулярном уровне морфогенез, по-видимому, сопряжен с активностью пролиферации [6, 7]. Поэтому установление связи между процессами роста и морфогенеза в условиях *in vitro* и влияние на эти процессы фенольных соединений является актуальной задачей

Цель исследования - изучение влияния экзогенных фенольных соединений и их предшественников на процессы роста каллуса сирени листового происхождения при культивировании на морфогенных средах.

Материалы и методы исследования. Объект исследования - стабильная каллусная культура листового происхождения, сирени (*Syringa vulgaris* (L.)), сорта «М.Шолохов», поддерживаемая в культуре Центрального ботанического сада НАН Беларуси, г. Минск с 2001 г. на модифицированной среде Мурасиге и Скуга (МС), в присутствии ростовых гормонов 2,4- дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и 6-бензиламинопурина (БАП) [9]. При изучении ростовых параметров каллусных линий, способных к морфогенезу использовали среды содержащие (мг/л) аскорбиновую кислоту - 50, гидролизат казеина - 500, $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 185, глутамин - 500, аланин -30, аргинин - 80, аспарагин - 250, сахароза- 30, 0,6 % агар, 13,5 μM 2,4-Д и 4,4 μM БАП, pH 5,7 (среда 1). Среда того же состава, что и среда 1 с добавлением 6,1 мг/л рутина (среда 2), среда содержащая 1,65 мг/л фенилаланина (среда 3), среда содержащая 6,1 мг/л рутина и 1,65 мг/л фенилаланина (среда 4). Продолжительность культивирования 60 суток. В качестве анализируемых промежутков взяты 10, 15, 20, 30, 40 и 60 дни.

На анализируемых участках определяли следующие ростовые параметры: масса каллуса в конце цикла выращивания (W_1), прирост сырой биомассы с учетом времени культивирования (Π_1), увеличение сырой биомассы каллуса (M), индекс скорости роста (I), удельную скорость роста (μ), время удвоения биомассы (G), максимальное накопление сырой биомассы (X), экономический коэффициент ($ЭК$) и продуктивность по сырой биомассе (P) [9].

В качестве аналитического инструмента был использован пакет прикладных программ @Statistica 6,0 (RUS) фирмы STATSOFT-RUSSIA с использованием следующих модулей: основного анализа вариационных рядов; регрессионного анализа динамических рядов; однофакторного дисперсионного анализа [8].

Результаты и обсуждение. Оценка особенностей динамики роста каллуса листового происхождения сирени, культивируемого на морфогенных средах, проводилась с помощью подбора адекватных регрессионных моделей. Из всех анализируемых показателей роста нами были выбран показатель максимального накопления сырой биомассы (X), значение которого является доказательством высокой пролиферативной активности листового каллуса сирени. Адекватность

модели оценивалась с помощью F-критерия Фишера. Было установлено, что наиболее адекватной моделью является полином 4-й степени.

Адекватность описания регрессионных моделей составила:

среда: 1 X: $F(11,48) = 18,747144$, $p = 0,0000$;

среда: 2 X: $F(11,48) = 78,3964206$, $p = 0,00000$;

среда: 3 X: $F(11,48) = 21,4078474$, $p = 0,0000$;

среда: 4 X: $F(11,47) = 10,2708232$, $p = 0,000000003$,

что соответствует высокой степени статистической достоверности.

На основании анализа графического представления моделей было установлено, что регрессионные модели для всех сред оказались идентичными. Для всех сред было характерно наличие лаг-фазы, экспоненциальной и стационарной фаз роста. Максимальное накопление биомассы наблюдали на 40 день культивирования. Морфологическая характеристика каллуса свидетельствует о том, что максимальное накопление сырой биомассы происходило за счет пролиферации, а не за счет оводненности клеток в сочетании с их растяжением, так как в этом случае каллус приобрел бы рыхлую консистенцию, а он оставался плотным. Однофакторный дисперсионный анализ, проведенный с целью установления влияния среды культивирования на ростовые параметры каллусной культуры (максимальное накопление сырой биомассы) на 40-е сутки показал, что достоверных различий между средой 3 и 4 не выявлено. В тоже время максимальное накопление сырой биомассы каллуса, выращенной на среде 2, было на 80% выше, чем на средах 3 и 4 и на 64% выше, чем на среде 1. Исключив из анализа среду 2 и изучив влияние сред (1,3,4), на ростовые показатели каллусной культуры установлено - отсутствие достоверного влияния состава изученных сред на показатель максимального накопления сырой биомассы.

Выводы:

1 Наиболее эффективной средой, обеспечивающей высокую пролиферативную активность каллуса, обладающего морфогенным потенциалом, является среда, содержащая рутин.

2. Максимальное накопление сырой биомассы каллуса сирени, культивируемого на морфогенных средах, происходит в экспоненциальную фазу роста, что соответствует 40 дню культивирования.

Литература:

1. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе / Р.Г. Бутенко. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
2. Тюкавкина, Н.А. Биофлавоноиды (Актювая речъ) / Н.А. Тюкавкина. – М.: изд дом «Русский врач». – 2002. – 56 с.
3. Ranen, P.H. *Biology of plants* / P.H. Ranen, R.F. Evert, S.E. Eichhorn. – 4-th ed. – Washington: Worth Publ., 1986. – P. 351.
4. Role of cytoskeleton in cell shaping of developing mesophyll of wheat / G. Jung [et al.] // *Eur. J. Cell Biol.* – 1992. – Vol. 57 – P. 88-94.
5. Васильев, А.Б. Сравнительная структурно-функциональная характеристика цитоскелета животных и растений / А.Б. Васильев // *Журн. общ. биологии.* – 1996. – Т. 57. – С. 293-325.
6. Ranen, P.H. *Biology of plants* / P.H. Ranen, R.F. Evert, S.E. Eichhorn. – 4-th ed. – Washington: Worth Publ., 1986. – P. 383.
7. Adventitious root growth and cell cycle induction in deepwater rice / R. Lorbiecke [and oth.] // *Plant Physiol.* – 1999. – Vol. 119. – P. 21-29.
8. Боровиков, В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В. Боровиков – СПб.: Питер, 2001. – 656с.

9. Ростовые и биосинтетические характеристики *Syringa vulgaris* L. сорта «М.Шолохов» стеблевого происхождения в культуре *in vitro* / Л.А.Любаковская [и др.] // Вестник ВГМУ –2007. –Т. 6, №1 – С.105-113